

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.15.004

文章编号: 1005-8982(2020)15-0021-08

全基因组染色体微阵列分析及核型分析在颈项透明层增厚胎儿遗传学诊断中的价值*

徐梅梅, 王海霞

(安徽省妇幼保健院 产前诊断中心, 安徽 合肥 230001)

摘要: **目的** 探讨全基因组染色体微阵列分析(CMA)及核型分析在颈项透明层(NT)增厚胎儿中的临床检测效能和价值,分析NT增厚在染色体显微及亚显微水平上的遗传学发病原因。**方法** 选取2017年1月1日—2018年9月30日在安徽省妇幼保健院产前诊断中心就诊的62例早孕期(11~13⁺6周)孕妇,经超声检查提示胎儿NT厚度 ≥ 2.5 mm,经羊水穿刺获取标本,再行标准的“核型分析+CMA”检查,确定遗传学诊断,结合临床资料分析检测结果。**结果** ①核型分析的检出率为16.13%(10/62),其中唐氏综合征5例,18三体综合征2例,1例嵌合体,另有2例结构畸变;CMA总检出率为24.19%(15/62),7例非整倍体与核型结果一致,8例为染色体微缺失/微重复。②按照NT值分组,核型分析和CMA在 $2.5 \text{ mm} \leq \text{NT} < 3.5 \text{ mm}$ 、 $3.5 \text{ mm} \leq \text{NT} < 4.5 \text{ mm}$ 、 $\text{NT} \geq 4.5 \text{ mm}$ 组中检出率分别为13.33%(4/30)/20.00%(6/30)、22.73%(5/22)/22.73%(5/22)、10.00%(1/10)/40.00%(4/10)。③受检样本中3例核型与CMA结果不符,1例核型为46,XN(28)/47,XN,+mar(14),CMA显示12p13.33p11.1区段发生2次重复,1例核型为46,XN,t(1:16)(q41:q23)pat,CMA正常,1例核型提示18号衍生染色体46,XN,der(18),CMA提示18p11.32p11.21区带存在14.9 Mb缺失,同时Yp11.31p11.2区域存在约8.2 Mb重复。在52例核型正常、NT增厚的胎儿中,CMA额外检出6例(11.54%)亚显微拷贝数变异(CNV),大小介于459 kb~2.03 Mb,涉及1q21.1q21.2、2q13、Xq28、11p15.4等区带。**结论** 胎儿NT增厚与染色体异常关系密切,且随NT值升高合并染色体病风险增大,CMA能检测传统核型分析无法识别的染色体微缺失/微重复,建议对NT增厚胎儿,应采用核型分析+CMA的标准遗传学诊断模式。

关键词: 颈项透明层厚度; 产前诊断; 染色体微阵列分析; 拷贝数变异

中图分类号: R714.55

文献标识码: A

Comparative study of whole-genome chromosomal microarray analysis and karyotype in fetuses with increased nuchal translucency*

Mei-mei Xu, Hai-xia Wang

(Prenatal Diagnostic Center, Anhui Woman and Child Health Care Hospital, Hefei, Anhui 230001, China)

Abstract: Objective To investigate the clinical value of whole-genome chromosomal microarray analysis (CMA) and chromosome karyotype analysis in the genetic diagnosis of fetuses with increased nuchal translucency (NT) and the genetic etiology for fetuses with increased NT in microscopic and submicroscopic chromosomal aberrations. **Method** Sixty-two fetuses with increased NT (≥ 2.5 mm) in the Prenatal Diagnostic Center of Anhui Women and Child Health Care Hospital were collected between 11 and 13⁺6 gestational weeks. Amniocentesis were performed to obtain fetal specimens for standard karyotype analysis and CMA detection. The results were analyzed

收稿日期: 2020-01-03

* 基金项目: 合肥市卫健委 2019 年应用医学研究重点项目 (No: 2019-16)

combined with the clinical data. **Results** ① All 62 cases were successfully detected, among which 10 cases were abnormal chromosome karyotypes and the positive rate was 16.13% (10/62), including five cases of trisomy 21, two cases of trisomy 18, one cases of mosaic and two cases of structural anomalies. Meanwhile, 15 specimens were shown abnormal results by CMA with detection rate of 24.19% (15/62), seven cases of aneuploidy were consist with karyotype analysis and microduplication/microdeletion were identified in eight cases. ② For the fetuses with $2.5 \text{ mm} \leq \text{NT} < 3.5 \text{ mm}$, $3.5 \text{ mm} \leq \text{NT} < 4.5 \text{ mm}$, $\text{NT} \geq 4.5 \text{ mm}$, the rates of chromosome abnormality detected by karyotyping and CMA were 13.33% (4/30) / 20.00% (6/30), 22.73% (5/22) / 22.73% (5/22), 10.00% (1/10) / 40.00% (4/10), respectively. ③ Three cases with abnormal karyotypes were inconsistent with their CMA results, one of which exhibited abnormal karyotype with 46, xx, t(1:16)(q41:q23) pat, but a normal CMA; the second displayed a mosaic karyotype with 46, XN(28)/47, XN, +mar(14), but twice duplications at 12p13.33p11.1 was identified by CMA; and the third one shown derivative chromosome with 46, XN, der(18), but a 14.9 Mb deletion at 18p11.32p11.21 and a 8.2 Mb microduplication at Yp11.31p11.2 were detected by CMA. Among 52 cases with increased NT but a normal karyotype, 6 (11.54%, 6/52) submicroscopic copy number variations (CNV) were identified by CMA, which were ranging from 459 kb to 2.03 Mb and involving 1q21.1q21.2, 2q13, Xq28, 11p15.4. **Conclusion** Increased NT is significantly correlated with chromosome abnormality and CMA can identify chromosomal microdeletion/microduplication unrecognizable by conventional karyotype analysis. Whole-genome chromosomal microarray analysis combined with karyotyping analysis should be used as a standard prenatal diagnostic model for fetuses with increased NT.

Keywords: nuchal translucency thickness; prenatal diagnosis; chromosomal microarray analysis; copy number variation

颈项透明层 (nuchal translucency, NT) 是指胎儿颈后的皮下液体积聚, 在超声图像上表现为颈后皮肤高回声带与深部软组织高回声带之间的无回声区^[1]。作为胎儿的高危标志物, NT 增厚与胎儿的染色体畸变、病理性亚显微拷贝数变异 (copy number variation, CNV)、各种器官结构异常、流产和死胎风险增加有关^[2]。传统的染色体核型分析因分辨率受限, 仅能发现染色体数目及大片段 (>10 Mb) 结构畸变, 难以识别亚显微结构异常, 染色体微阵列分析 (chromosomal microarray analysis, CMA) 能够对全基因组扫描, 分辨率达 50 ~ 100 kb, 比传统核型分析提高近 1 000 倍, 近年来已成为产前检测 CNV 强有力的诊断工具。本研究对 62 例 NT 增厚的胎儿进行标准的核型分析 +CMA 遗传学分析, 评估 NT 增厚的显微和亚显微水平遗传学发病原因及两者的诊断效率, 为 CMA 在产前诊断中的应用积累有价值的临床资料。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2017 年 1 月 1 日—2018 年 9 月 30 日在安徽省妇幼保健院产前诊断中心就诊的 62 例孕妇的胎儿 (均为单胎妊娠)。根据 NT 厚度分为 3 组: 2.5 ~ <3.5 mm 组 (30 例), 3.5 ~ <4.5 mm 组 (22 例) 及 $\geq 4.5 \text{ mm}$ 组 (10 例)。年龄 18 ~ 44 岁, 平均 (30.10 ± 5.49) 岁。

通过羊水穿刺术获取胎儿标本, 同时行染色体核型分析及 CMA 检测。纳入标准: ① 孕妇孕期 11 ~ 13⁶ 周 (顶臀径 45 ~ 84 mm); ② NT 检查, 胎儿未合并其他异常。排除标准: ① 夫妻双方本身合并染色体异常疾病; ② 合并感染性疾病、凝血功能障碍疾病; ③ 先兆流产; ④ 胎盘前置伴出血; ⑤ 羊水过少。本研究已获得医院医学伦理委员会的批准, 所有受检者术前签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 超声检查 使用 LOGIQ E9 (美国 GE 公司)、iU22 (荷兰飞利浦公司) 彩色多普勒超声诊断仪, 配套经腹部超声探头, 探头频率设置为 2 ~ 5 MHz; 测量胎儿头臀径在 45 ~ 84 mm; 孕妇取仰卧位, 胎儿自然姿势, 在胎儿正中矢状切面时测量, 放大超声影像, 使胎儿躯体占据整个影像画面的 3/4, 同时显示胎儿鼻尖、鼻骨、间脑、腭部和脊柱; 分辨羊膜和胎儿皮肤, 测量胎儿鼻骨下缘至颈椎垂直方向 NT 最大厚度; 横标尺应放在白线的边界处; 直至两者重叠, 连续测量 3 次后取最大值, 且光标尺的移动只可改变测量结果的 0.1 mm。

1.2.2 羊水穿刺术 纳入 62 例患者, 在孕 18~24 周时, 无菌条件下行羊膜腔穿刺术, 抽取三管羊水, 每管约 10 ml。所有穿刺在超声引导下由具有产前诊断资质、经验丰富的医生进行操作。

1.2.3 羊水 DNA 提取 取羊水 10 ~ 15 ml 于离心管中, 1 600 r/min 离心 10 min, 弃去上清液。使用 QIAamp DNA Blood Mini Kit 试剂盒(德国 Qiagen 公司)提取基因组 DNA, 用 Nanodrop 2000 分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)检测 DNA 浓度和质量[光密度(OD) 260/280 值 1.8 ~ 2.0]。

1.2.4 染色体核型分析 抽取 2 管羊水, 离心弃去上清液, 混匀后, 分别接种于 2 个装有 4.5 ml 培养基的培养瓶中, 分两线于 5% 二氧化碳培养箱培养 7 ~ 8 d, 第 2 天取出观察, 视生长情况换液, 继续培养 24 h, 当有大量分裂期细胞时, 加入秋水仙素继续培养 1 h 后收获 - 低渗 - 固定 - 制片 - 消化 - G 显带。镜下计数 30 个中期分裂相, 两线镜下各分析 5 个核型, 如遇嵌合体, 加倍计数分析。染色体图像分析系统两线至少采 3 个图, 核型结果严格参照《人类细胞遗传学的国际命名体制 (ISCN)》进行描述^[3]。

1.2.5 CMA 采用 Affymetrix Gene Chip[®] System (GCS) 3000 Dx V.2 基因芯片扫描系统(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)对样本进行检测, 严格按照 Affymetrix Cyto Scan 750K 芯片(55 万 CNV 探针和 20 万 SNP 探针)的标准操作流程进行检测: 基因组 DNA 酶切、连接、PCR 扩增、纯化、片段化、标记, 芯片杂交、洗涤及扫描。数据结果采用 Chromosome Analysis Suite (ChAS 3.1) 软件进行分析, CNV 的报告阈值为 200 kb 缺失、500 kb 重复。对 CMA 检出的 CNV 结果判读, 主要参考常用国际公共数据库, 如 DGV (<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>) 及本实验室内部数据库。根据 CNVs 的性质不同, 将其分为致病性 CNVs、可能致病性 CNVs、良性 CNVs、可能良性 CNVs 以及临床意义不明确 CNVs 5 类^[4]。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 23.0 统计软件。计数资料以例 (%) 表示, 比较采用 χ^2 检验或校正 χ^2 检验, 趋势分析采用 Cochran Armitage 趋势检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 核型分析及 CMA 结果

62 例 NT 增厚的胎儿中, 常规羊水核型分析发现 10 例染色体异常, 检出率为 16.13%, 其中 5 例 (8.06%) 为唐氏综合征, 2 例 (3.23%) 为 18 三体综合征, 1 例 (1.61%) 嵌合体, 2 例 (3.23%) 为染色体结构畸变, 分

别为 46, XN, t(1 : 16)(q41 : q23) pat 和 46, XN, der(18)。

CMA 发现 15 例染色体异常, 检出率为 24.19%, 7 例 (11.29%) 为常见染色体非整倍体 (5 例唐氏综合征, 2 例 18 三体综合征), 8 例 (12.90%) 为染色体微缺失 / 微重复, 其中 4 例微缺失、2 例微重复、1 例微重复 + 微缺失、1 例伴有 2 处微重复。CMA 检出的 CNVs 片段大小介于 459 kb ~ 34.34 Mb, 涉及 1q21.1q21.2、2q13、12p13.33p11.1、11p15.4、Xq28 等区带。

2.2 不同 NT 值组核型分析和 CMA 结果

2.2.1 2.5 ~ <3.5 mm 组 30 例胎儿中核型分析发现 4 例异常 (13.33%), 包括 2 例唐氏综合征, 1 例 18 三体综合征和 1 例结构畸变 46, XN, t(1 : 16)(q41 : q23) pat; CMA 共检出 6 例 (20.00%) 异常, 其中 3 例染色体数目异常与核型一致, 1 例 2q13 微缺失, 1 例 Xq28 微重复, 1 例伴有 4q35.1 和 13q11q12.11 2 处微重复 (其中 4 例为致病性, 2 例 VOUS)。

2.2.2 3.5 ~ <4.5 mm 组 22 例胎儿中核型分析检出 5 例异常 (22.73%), 包含 3 例唐氏综合征, 1 例 18 三体综合征和 1 例结构畸变 46, XN, der(18); CMA 共检出 5 例 (22.73%) 异常, 4 例染色体非整倍体与核型结果相同, 1 例 18p11.32p11.21 微缺失伴 Yp11.31p11.2 微重复 (均为致病性)。

2.2.3 ≥ 4.5 mm 组 10 例胎儿中核型分析检出 1 例 (10.00%) 嵌合性异常; CMA 发现 4 例 (40.00%) 异常, 其中 1 例为 12 号染色体短臂发生 2 次重复, 1 例 1q21.1q21.2 微缺失, 1 例 1q21.1 微缺失, 1 例 11p15.4 微缺失 (2 例为致病性, 1 例为可能致病性, 1 例为 VOUS)。

2.2.4 总计 62 例中, CMA 检出 15 例 (24.19%) 染色体异常, 核型分析共发现 10 例 (16.13%) 异常。核型分析和 CMA 对染色体异常的检出率, 在 3 种厚度的样本间比较, 差异均无统计学意义 (P > 0.05) (见表 1); 经 Cochran Armitage 趋势检验结果显示, 核型分析发现的染色体异常检出率, 随 NT 增厚的变化趋势无差异 ($\chi^2=1.630, P=0.443$), 但 CMA 所发现的却有差异 ($\chi^2=11.567, P=0.003$), CMA 检出率随 NT 值的增加而增加。

2.3 孤立性及非孤立性 NT 增厚胎儿核型分析和 CMA 结果

62 例 NT 增厚胎儿中, 40 例为孤立性 NT 增厚,

22 例为非孤立性 NT 增厚（包括 10 例 NT 增厚合并高龄孕妇、4 例 NT 增厚合并不良孕产史、8 例 NT 增厚合并其他超声异常）。见表 2。

表 1 不同 NT 增厚组核型分析和 CMA 结果 例 (%)

组别	n	核型分析	CMA
2.5 ~ <3.5 mm 组	30	4 (13.33)	6 (20.00)
3.5 ~ <4.5 mm 组	22	5 (22.73)	5 (22.73)
≥ 4.5 mm 组	10	1 (10.00)	4 (40.00)
总计		10 (16.13)	15 (24.19)
χ ² 值		1.159	1.676
P 值		0.560	0.433

表 2 孤立性及非孤立性 NT 增厚胎儿核型分析和 CMA 结果 例 (%)

组别	n	核型分析	CMA
孤立性 NT 增厚	40	1 (2.50)	5 (12.50)
非孤立性 NT 增厚	22	9 (40.91)	10 (45.45)
NT 增厚合并高龄孕妇	10	5 (50.0)	5 (50.00)
NT 增厚合并不良孕产史	4	0 (0.00)	1 (25.00)
NT 增厚合并其他超声异常	8	4 (50.00)	4 (50.0)
总计	62	10 (16.13)	15 (24.19)

在 40 例孤立性 NT 增厚胎儿中，核型分析和 CMA 的检出率分别为 2.5% (1/40) 和 12.5% (5/40)，其中核型分析发现 1 例 46, XN, t(1 : 16)(q41 : q23) pat 染色体间相互易位，CMA 发现 5 例微缺失 / 微重

复。在 10 例 NT 增厚合并高龄孕妇的胎儿中，核型和 CMA 均检出 5 例异常，其中 4 例为唐氏综合征，1 例染色体结构异常 46, XN, der(18)；在 4 例 NT 增厚合并不良孕产史胎儿中，核型分析未见异常，CMA 发现 1 例微缺失。在 8 例 NT 增厚合并其他超声异常(如心室强光斑、脉络丛囊肿、鼻骨缺失、房间隔缺损、下颌扁平等)胎儿中，核型发现 4 例染色体非整倍体(1 例唐氏综合征，2 例 18 三体综合征，1 例嵌合体)，CMA 检出 4 例异常，除 3 例染色体数目异常与核型分析一致外，CMA 发现 1 例 12 号染色体短臂 2 次重复的畸变。总体而言，合并高龄、不良孕产史和其他超声异常的非孤立性 NT 增厚胎儿，核型分析和 CMA 的检出分别为 40.91% (9/22) 和 45.45% (10/22)，孤立性及非孤立性 NT 增厚组核型分析和 CMA 结果比较，差异有统计学意义 (χ²=12.770 和 8.405, P=0.000 和 0.004)，非孤立性 NT 增厚组均高于孤立性 NT 增厚组。

2.4 核型分析及 CMA 阳性结果比较

62 例胎儿中，核型分析发现 10 例异常，其中 7 例非整倍体异常与 CMA 结果相符，另有 3 例核型分析与 CMA 结果不符(见表 3)。其中，1 例(胎儿 3)核型分析为 46, XN, t(1 : 16)(q41 : q23) pat, CMA 未见异常(见图 1A)，1 例(胎儿 2)核型分析为 46, XN(28) / 47, XN, +mar(14)(见图 2A)，CMA 显示 12p13.33p11.1 区段发生 2 次重复(见图 1B)，1 例(胎儿 11)核型分析提示 18 号衍生染色体 46, XN, der(18)(见图 2B)，CMA 提示 18p11.32p11.21 区带存在 14.9 Mb 缺失，同时 Yp11.31p11.2 区域存在约 8.20 Mb 重复(见

表 3 17 例 NT 增厚胎儿中核型分析及 CMA 结果比较

序号	年龄 / 岁	NT 厚度 / mm	其他指征	核型分析	CMA	病理性	核型分析与 CMA 一致性	随访结果
1	23	3.3	血清学筛查唐氏综合征风险值 1/194, 左心室强光点	47, XN, +21	arr[hg19] 21q11.2q22.3 (15 016 486-48 093 361) x3	致病性	是	引产
2	27	4.6	胎儿下颌扁平	46, XN(28) / 47, XN, +mar(14)	arr[hg19] 12p13.33p13.2 (173 786-11 957 231) x4 arr[hg19] 12p13.2p11.1 (11 962 572-34 513 955) x4	致病性	否	引产
3	30	3.0		46, XN, t(1 : 16)(q41 : q23) pat	arr(1-22) x2, (X, N) x1		否	正常
4	41	3.2	高龄孕妇, 静脉导管 A 波反流	47, XN, +18	arr[hg19] 18p11.32q23 (136 227-78 013 728) x3	致病性	是	引产
5	23	3.0		46, XN	arr[hg19] 2q13 (110 498 141-110 980 295) x1	临床意义不明确	否	正常
6	37	4.6	高龄, 不良妊娠史	46, XN	arr[hg19] 1q21.1q21.2 (145 895 746-147 929 115) x1	致病性	否	正常

续表 3

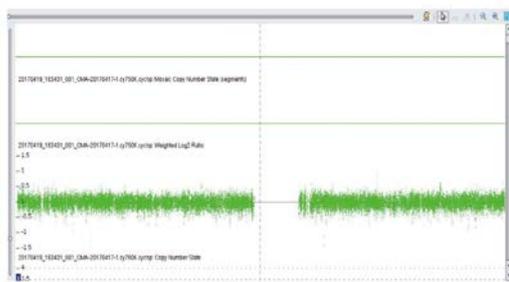
序号	年龄 / 岁	NT 厚度 / mm	其他指征	核型分析	CMA	病理性	核型分析与 CMA 一致性	随访结果
7	34	3.6	高龄孕妇, 右侧脉络丛囊肿	47, XN, +18	arr[hg19] 18p11.32q23 (136 227-74 982 796) x3; arr[hg19] 18q23 (74 983 927-78 013 728) x3	致病性	是	引产
8	35	2.8		47, XN, +21	arr[hg19] 21q11.2q22.3 (15 016 486-48 093 361) x3	致病性	是	引产
9	28	3.0		46, XN	arr[hg19] Xq28 (154 109 413-154 568 758) x2	致病性	否	正常
10	40	4.2	高龄孕妇	47, XN, +21	arr[hg19] 21q11.2q22.3 (15 016 486-48 093 361) x3 arr[hg19] 18p11.32p11.21 (136 227-15 099 116) x1	致病性	否	引产
11	32	3.8	高龄孕妇	46, XN, der (18)	arr[hg19] Xp22.33 or Yp11.32p11.31 (168 551-2 693 467 or 118,551-2 643 467) x3 arr[hg19] Yp11.2 (6 150 391-8 372 743) x2 arr[hg19] Yp11.31p11.2 (2 650 424-6 107 721) x2	致病性	否	引产
12	29	4.5		46, XN	arr[hg19] 1q21.1 (145 288 360-145 760 793) x1	可能致病性	否	正常
13	30	3.8		46, XN, 21ps-	arr (1-22) x2, (X, N) x1		否	正常
14	31	10.0		46, XN	arr[hg19] 11p15.4 (7 125 604-7 588 799) x1	临床意义不明确	否	正常
15	22	3.0		46, XN	arr[hg19] 4q35.1 (184 145 602-185 121 167) x3; arr[hg19] 13q11q12.11 (19 436 286-20 153 292) x3	临床意义不明确	否	正常
16	44	3.5		47, XN, +21	arr[hg19] 21q11.2q22.3(15 016 486-48 093 361) x3	致病性	是	引产
17	37	3.6		47, XN, +21	arr[hg19] 21q11.2q22.3 (15 016 486-48 093 361) x3	致病性	是	引产

图 1C 和 D)。CMA 共检出 15 例染色体异常, 除上述 7 例染色体数目异常与核型分析一致及 3 例核型分析与 CMA 不吻合的胎儿外, 在余下 52 例核型分析正常的胎儿中, CMA 额外检出 6 例 (11.54%) 亚显微拷贝数变异, 片段大小介于 459 kb ~ 2.03 Mb, 2 例涉及 1q21.1 微缺失, 1 例 2q13 微缺失、1 例 Xq28 微重复、1 例 11p15.4 微缺失、1 例 4q35.1 微重复, 涉及 RBM8A (605313)、TRAPPC11

(614138) 等基因。

2.5 妊娠结局随访

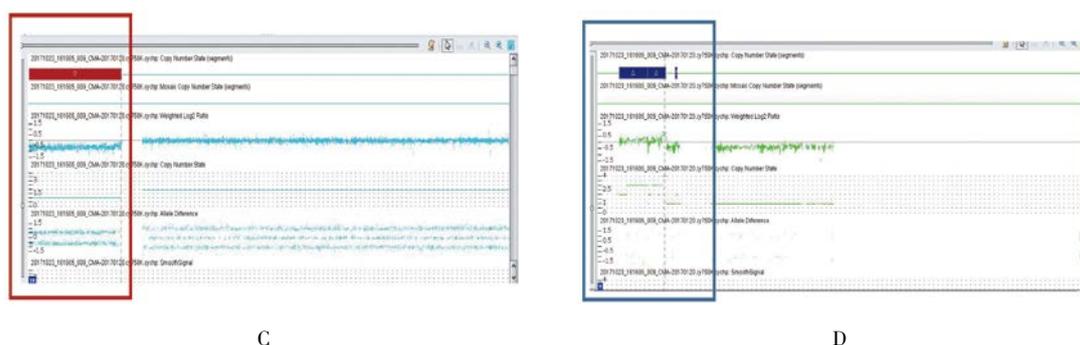
10 例核型分析异常的胎儿中, 9 例选择终止妊娠, 包括 5 例唐氏综合征, 2 例 18 三体综合征, 1 例 18 号衍生染色体 46, XN, der(18), 1 例嵌合体 46, XN(28) / 47, XN, +mar (14)。1 例遗传性染色体相互易位 [46, XN, t(1 : 16) (q41 : q23) pat] 选择继续妊娠, 出生



A

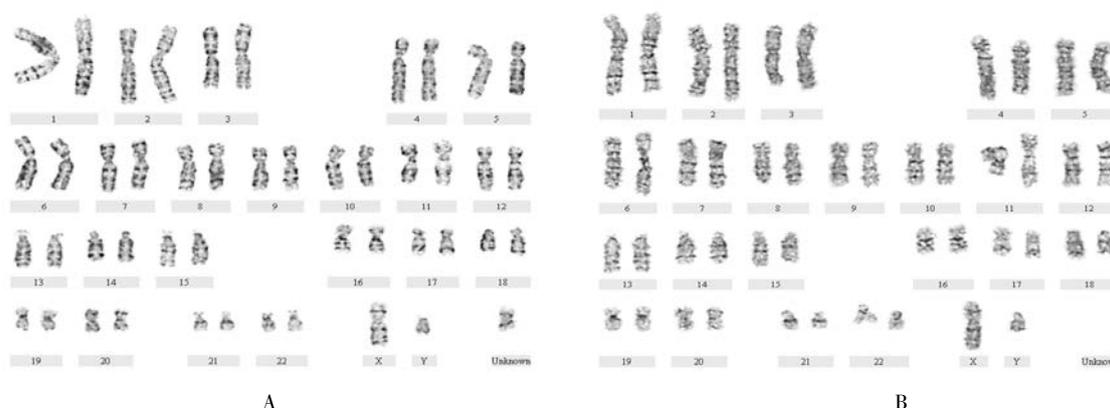


B



A: 胎儿 3 CMA 结果示意图; B: 胎儿 2 CMA 结果示意图, 黑色方框为 12p 区域; C: 胎儿 11 CMA 结果示意图, 红色方框为 18p 区域; D: 胎儿 11 CMA 结果示意图, 蓝色方框为 Yp 区域。

图 1 胎儿 CMA 结果图



A: 胎儿 2 核型分析为 46, XN (28) /47, XN, +mar (14); B: 胎儿 11 核型分析为 18 号衍生染色体 46, XN, der (18)。

图 2 胎儿核型分析结果

后未见明显异常。

52 例核型分析正常的胎儿中, 2 例终止妊娠, 剩余 45 例选择继续妊娠, 包括 CMA 异常 6 例 (其中致病性 2 例, 可能致病性 1 例, 临床意义不明 3 例) 均足月分娩, 产后 5 个月随访未发现异常, 但不排除后期是否有智力或精神发育层面的异常, 此外, 另有 1 例 NT 厚度为 4.0 mm, 且核型分析和 CMA 正常的胎儿, 出生后发现伴有房间隔缺损。研究中共有 5 例失访。

3 讨论

临床有 15% ~ 20% 的妊娠以流产告终, 其中 1% 的夫妇出现反复 (至少 2 次) 流产, 早期流产的主要病因是胎儿染色体异常, 占比高达 50% 以上, 因此早期筛查该异常尤为重要^[4]。NT 作为一项妊娠早期筛查胎儿染色体非整倍体异常的有效指标已被广泛应用于临床, NT 的检查孕周为 11 ~ 13¹⁶ 周, 一般认为 NT \geq 3.0 mm 为异常标准。NT 增厚与胎儿的染色体数目及结构畸变、微缺失/微重复、各种器官结构异常、

流产和死胎风险增加有关^[5]。临床对 NT 增厚的胎儿, 绝大部分需行介入性产前诊断, 以评估胎儿遗传学发病原因。目前, 染色体核型分析作为常规的产前诊断技术, 通常仅可发现大于 10 Mb 的染色体畸变^[6], 但是很多遗传疾病可能是由小于 10 Mb 的“亚显微结构异常”导致, 这些微缺失/微重复可能占人类遗传性疾病相当大的一部分, 据估计高达 15%^[7], 由此可见, 传统核型分析已不能满足产前临床遗传病诊断需求。

CMA 作为一种新型的分子诊断方法, 与传统染色体核型分析比较, 无需细胞培养, 具有高通量、高分辨率和高自动化检测的优势, 可在全基因组范围内检测核型分析难以发现的微缺失和微重复、部分嵌合体、杂合性缺失/单亲二倍体等, 一次性同步检测多种与出生缺陷相关的基因组异常。本研究结果显示, 62 例 NT \geq 2.5 mm 的胎儿中, 羊水核型分析发现 10 例染色体异常, 检出率为 16.13%, 阳性样本中包括 5 例唐氏综合征, 2 例 18 三体综合征, 1 例嵌合体, 2 例染色体结构畸变, 该结果与既往文献^[8-10] 报道基本类似。由

此可见,NT增厚是妊娠早期提示胎儿染色体异常的重要筛查指标之一,也是介入性产前诊断的主要指征之一,同时胎儿NT增厚也是针对性筛查三体综合征(唐氏综合征居多)的重要指标。本研究结果还显示,在不同NT值组中,CMA的检出率略高于核型分析,主要是由于CMA可以检测核型分析难以识别亚显微结构异常,且从CMA的检测结果可以看出,随着NT厚度增加,CNV的检出率逐步升高。此外,本研究结果显示,52例核型分析正常、NT增厚的胎儿中,CMA额外检出6例(11.54%)染色体微缺失/微重复,片段大小介于459 kb~2.03 Mb,涉及1q21.1q21.2、1q21.1、2q13、11p15.4、4q35.1/13q11q12.11、Xq28区带,其中4例(5.77%)为可能致病性/致病性CNV(2例致病性,1例可能致病性,3例临床意义不明),略低于既往报道^[1],这可能是由于本研究中选用的NT阈值较低($NT \geq 2.5$ mm)有关,其他相关研究多以 $NT \geq 3.0$ mm、3.5 mm或4.0 mm作为截断值。40例非孤立性样本中,核型和CMA的检出率分别为2.5%(1/40)和12.5%(5/40),而在合并高龄、不良孕产史及其他超声异常的非孤立性NT增厚组,两者的异常检出均高于孤立性NT增厚组。在孤立性和非孤立性NT增厚组,CMA的检出率高于核型分析,但因样本量较少,不能确定有无统计学意义。上述研究结果均表明,非孤立性NT增厚组的pCNVs检出率高于孤立性NT增厚组,对核型分析正常、NT增厚的胎儿应再行CMA检测,以找出染色体亚显微结构异常发病原因,避免漏检。

本研究62例受检胎儿中,核型分析发现10例异常,其中7例为数目异常,且与CMA结果一致,另有3例核型分析与CMA结果不吻合:胎儿3为孤立性的NT增厚(3.0 mm),羊水核型分析为46,XN,t(1:16)(q41:q23)pat,CMA未见异常,胎儿父母的核型分析结果显示,母亲未见异常(46,XX),父亲核型分析为46,XY,t(1:16)(q32:q22),父亲是1号与16号染色体之间相互易位的携带者,并将该变异遗传给胎儿,因胎儿CMA未见异常,说明在染色单体断裂位点形成和重接的过程中未发生遗传物质的丢失和增加。胎儿2的NT厚度为4.5 mm,并伴有下颌扁平,核型分析结果为伴有额外标记染色体的嵌合体:46,XN(28)/47,XN,+mar(14),而CMA结果显示12p13.33p11.1区段发生2次重复,涉及Pallister-Killian综合征染色体异常区域,该综合征

表型包括智力低下、癫痫、皮肤色素沉着、面部异常等。CMA初步明确mar染色体的来源,但因夫妇拒绝进一步行胎儿羊水mar染色体FISH检测及家系验证,没办法最终确认mar染色体的来源组成及家族遗传性。胎儿11的NT厚度为3.8 mm,且孕妇为高龄,胎儿羊水核型分析提示18号衍生染色体:46,XN,der(18),CMA检测结果显示18p11.32p11.21区带存在14.9 Mb片段缺失,涉及18p单体综合征,临床表型包括发育迟缓、矮小、面部异常、智力低下等,同时Yp11.31p11.2存在约8.20 Mb重复,可见对该类核型分析结果不明的畸变,CMA可协助明确核型组成及具体表现形式。因胎儿在不同染色体的短臂末端同时存在片段缺失和重复,根据细胞基因组学理论,高度提示夫妻一方是平衡易位的携带者,但夫妇拒绝进一步行家系验证,无法有效评估胎儿染色体畸变的遗传性及夫妻再生育时的再发风险。上述3例核型分析与CMA结果不符说明,核型分析能够发现一些平衡性畸变、额外标记染色体及衍生染色体的表现形式,CMA有助于明确平衡性畸变断裂位点重组过程中是否发生遗传物质改变,同时可协助判定额外标记及衍生染色体包含的基因种类、数量及来源。在52例核型分析正常、NT增厚的胎儿中,CMA额外检出6例(11.54%)核型分析难以发现的亚显微拷贝数变异。由此可见,核型分析和CMA各有其独特的优势,两者的检测结果可以相互验证,互为补充,以确保产前诊断结果的准确性,避免漏诊风险。

综上所述,胎儿NT增厚与染色体异常关系密切,且随NT值升高合并染色体病风险增大,CMA能检测传统核型分析无法识别的染色体微缺失/微重复,建议对NT增厚胎儿,应采用核型分析+CMA的标准遗传学诊断模式。

参 考 文 献:

- [1] ROOZBEH N, AZIZI M, DARVISH L. Pregnancy outcome of abnormal nuchal translucency: a systematic review[J]. Journal of Clinical and Diagnostic Research, 2017, 11(3): QC12-QC16.
- [2] 戚庆炜,张巍. 胎儿NT增厚的临床意义和基于基因组学的遗传诊断路径分析[J]. 妇产与遗传(电子版), 2017, 7(2): 50-54.
- [3] SCHMID M, MCGOWAN-JORDAN J, SIMONS A. ISCN (2016): An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2016)[M]. S Karger: 2016.
- [4] KEARNEY H M, THORLAND E C, BROWN K K, et al. American college of medical genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy

- number variants[J]. *Genet Med*, 2011, 13(7): 680-685.
- [5] REDDY U M, PAGE G P, SAADE G R. The role of DNA microarrays in the evaluation of fetal death[J]. *Prenat Diagn*, 2012, 32(4): 371-375.
- [6] ALI M M, CHASEN S T, NORTON M E. Testing for Noonan syndrome after increased nuchal translucency[J]. *Prenatal Diagnosis*, 2017, 37(8): 750-753.
- [7] KIRCHHOFF M, ROSE H, LUNDSTEEN C. High resolution comparative genomic hybridisation in clinical cytogenetics[J]. *J Med Genet*, 2001, 38(11): 740-744.
- [8] SCHMID M, STARY S, BLAICHER W, et al. Prenatal genetic diagnosis using microarray analysis in fetuses with congenital heart defects[J]. *Prenat Diagn*, 2012, 32(4): 376-382.
- [9] 吴岩, 福林, 申文凤. 超声监测颈项透明层厚度在胎儿染色体异常诊断中的价值 [J]. *中国妇幼保健*, 2018, 33(4): 856-858.
- [10] 徐慧, 燕凤, 郭芬芬, 等. 胎儿颈项透明层厚度与染色体异常关系的探讨 [J]. *中国产前诊断杂志 (电子版)*, 2012, 4(3): 19-22.
- [11] 李载红, 洪燕, 覃伶俐, 等. 超声检查颈项透明层增厚在胎儿染色体异常诊断中的应用价值 [J]. *实用医学杂志*, 2016, 32(3): 402-405.
- [12] American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins-Obstetrics, Committee on Genetics, Society for Maternal-Fetal Medicine. Practice Bulletin No. 162: Prenatal diagnostic testing for genetic disorders[J]. *Obstet Gynecol*, 2016, 127(5): e108-122.

(王荣兵 编辑)

本文引用格式: 徐梅梅, 王海霞. 全基因组染色体微阵列分析及核型分析在颈项透明层增厚胎儿遗传学诊断中的价值 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(15): 21-28.